

闪式与回流提取美洲大蠊总氨基酸的工艺比较

吴红梅¹, 李晨晨¹, 刘楠¹, 周文杰¹, 欧水平¹, 杨明^{1,2*}

- (1. 成都中医药大学中药材标准化教育部重点实验室, 成都 611137;
2. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的:比较闪式与回流提取美洲大蠊总氨基酸的工艺。方法:以总氨基酸提取率为指标,采用紫外分光光度法测定指标成分含量,考察闪式与回流提取对美洲大蠊总氨基酸提取工艺的影响。结果:采用闪式提取总氨基酸的含量与回流提取基本一致。结论:美洲大蠊总氨基酸采用闪式提取效率高、省时、节能,可推广用于动物类药材的提取。

[关键词] 闪式提取;美洲大蠊;总氨基酸;提取工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0052-02

Comparison of Smashing and Reflux Extraction Process for Total Amino Acid in *Periplaneta americana*

WU Hong-mei¹, LI Chen-chen¹, LIU Nan¹, ZHOU Wen-jie¹, OU Shui-ping¹, YANG Ming^{1,2*}

- (1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicines, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Ministry of Education, Chengdu 611137, China;
2. Key Lab for Modern Preparation of TCM, Ministry of Education of China, Jiangxi College of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To compare smashing and reflux extraction of total amino acid in *Periplaneta americana*. **Method:** With extraction rate of total amino acid as index, which was determined by UV-vis, effect of smashing and reflux extraction on total amino acid in *P. americana* was investigated. **Result:** The content of total amino acid in *P. americana* of smashing extraction was basically the same with reflux extraction. **Conclusion:** Smashing extraction method for total amino acid in *P. americana* could save time, working and energy, it should be widely used in extraction of animal medicine.

[Key words] smashing extraction; *Periplaneta americana*; total amino acid; extraction process

美洲大蠊始载于《神农本草经》,列为中品^[1],具有破瘀化积、解毒消肿之功效。近期研究发现,美洲大蠊含有大量的氨基酸、多肽、微量元素等活性成分,并以其为原料开发出“康复新液”、“心脉龙注射液”、“消症益肝片”等制剂。在目前的制剂生产过程中,总氨基酸的提取通常采用热回流法,其中蛋白类等热敏性成分易被破坏,且耗时、耗能。闪式提取具有不加热、省时、节能等优点,目前多用于植物药有效成分的提取^[2-6],极少应用于含蛋白类等热敏性成分较多的动物药,更未见其应用于美洲大蠊的

研究报道。本试验通过比较闪式与回流提取对美洲大蠊总氨基酸提取率的影响,以选择更适宜的提取方法,为实际生产提供参考。

1 材料

UV-1700型紫外分光光度仪(日本岛津),SZ-93型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),JHBE-50S型闪式提取控制器(河南金鼎科技发展有限公司),丙氨酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号140680-201002),水为重蒸水,试剂均为分析纯,美洲大蠊药材(四川科伦天然药业有限公司,批号101201),经成都中医药大学药学院中药鉴定教研室裴瑾教授鉴定为蜚蠊科昆虫美洲大蠊 *Periplaneta americana* L. 的干燥全体。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备 精密称取丙氨酸对照品

[收稿日期] 20120216(005)

[第一作者] 吴红梅,在读博士,从事中药新剂型、新制剂研究, Tel:15351218738, E-mail:381176659@qq.com

[通讯作者] * 杨明,教授,博士,从事中药新制剂新技术研究, Tel:028-61800127, E-mail:yangming16@126.com

15.84 mg,置 100 mL 量瓶中,加 10% 异丙醇溶液适量,使溶解并稀释至刻度,摇匀。精密量取 5 mL,至 50 mL 量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.2 标准曲线的绘制 精密量取标准溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中,各加水使成 2.5 mL,精密加入柠檬酸缓冲液(pH 5.0) 1 mL, 1% 维 C 溶液(新鲜配制)0.1 mL, 茚三酮乙醇溶液 3 mL, 摇匀,置 100 °C 水浴中加热 15 min, 取出,迅速冷却至室温,用 60% 乙醇稀释至刻度,摇匀。按紫外分光光度法(《中国药典》2010 年版一部附录 V)于 570 nm 处测定吸光度(A),以进样量为横坐标,A 为纵坐标,得回归方程 $A = 0.0228X + 0.0107$ ($r = 0.9999$),表明丙氨酸在 7.92 ~ 39.6 μg 与 A 呈良好线性关系。

2.3 提取液的制备

2.3.1 回流提取法 取美洲大蠊药材约 25 g,精密称定,加 10 倍量 85% 乙醇,加热回流提取 3 次,每次 1 h,合并提取液,过滤,将滤液置 1 L 量瓶中,用 85% 乙醇稀释至刻度,摇匀,即得提取液。

2.3.2 闪式提取法 取美洲大蠊药材约 25 g,精密称定,加 10 倍量 85% 乙醇闪式提取 3 次,每次 1 min,合并提取液,过滤,将滤液置 1 L 量瓶中,用 85% 乙醇稀释至刻度,摇匀,即得提取液。

2.4 供试品溶液的制备 分别精密吸取 2.3 项下提取液 4 mL,至 10 mL 量瓶中,用 85% 乙醇稀释至刻度,摇匀,即得。

2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液 1.5 mL,按 2.2 项下方法测定 A。RSD 0.07%,说明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 精密取同一份供试品溶液,按 2.2 项下方法显色,分别于 0, 15, 30, 45, 60 min 测定 A。结果 RSD 0.31%,表明供试品溶液在 1 h 内稳定。

2.7 重复性试验 精密吸取同一批次提取液 6 份,按 2.4 项下方法制备样品溶液,按 2.2 项下方法测定 A,结果 RSD 0.94%。

2.8 加样回收率试验 取已知含量的提取溶液($148.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 6 份,分别精密加 $158.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙氨酸对照品溶液 1, 1, 2, 2, 3, 3 mL,至 10 mL 量瓶中,按 2.4 项下方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 1 mL,按 2.2 项下方法进行测定,计算平均回收率 102.15%,RSD 2.03%。结果见表 1。

2.9 样品测定 分别取 5 份美洲大蠊药材,每份约 25 g,精密称定,按 2.3 项下方法制备提取液,提取液按 2.4 项下方法制备供试品溶液,精密吸取供试品溶液 1 mL,按 2.2 项下方法测定 A,计算总氨基酸质量分数,结果闪式提取液分别为 5.63, 5.69,

表 1 美洲大蠊丙氨酸加样回收率试验

取样量 /mL	样品中含量 /μg	加入量 /μg	测得量 /μg	回收率 /%
2.0	158.4	461.36	103.76	104.61
	158.4	458.64	102.05	
	297	316.8	628.41	
	316.8	610.72	99.03	
	475.2	774.89	100.57	
	475.2	785.93	102.89	

5.65, 5.56, 5.77 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 回流提取液中分别为 5.69, 5.87, 5.71, 5.65, 5.84 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。表明采用闪式提取或回流提取美洲大蠊中总氨基酸,其含量基本一致,无显著性差异。

3 讨论

美洲大蠊中氨基酸含量较高,种类齐全,氨基酸作为合成各种具有重要功能分子的必需前体物,具有调节免疫、调节代谢等独特功能^[7],文献报道回流提取美洲大蠊的总氨基酸含量较超声及索氏提取的提取率高^[8],且在实际生产过程中多采用回流提取美洲大蠊药材,而本试验发现,采用回流和闪式提取方法所得总氨基酸的含量差异不大,但提取物中其他成分是否存在差异,还有待进一步研究。

本试验将闪式提取器应用于动物药美洲大蠊总氨基酸的提取。虽然研究数据显示闪式提取所得总氨基酸含量稍低于回流提取,但统计学上无显著差异,与实际生产中采用的加热回流提取时间长、操作繁琐、能耗高相比,闪式提取具有省时、节能等优点,对动物药而言,无疑是一种避免蛋白类等热敏性成分被破坏的新方法。

[参考文献]

- [1] 孙星衍. 神农本草经[M]. 北京:商务印书馆,1955:90.
- [2] 赵强强,韩丽,熊永爱,等. 闪式与回流提取黄芪皂苷工艺比较[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(13):1.
- [3] 刘振洋,刘延泽,刘改岚,等. 绞股蓝总皂苷的闪式提取和纯化工艺研究[J]. 中草药,2009,40(7):1071.
- [4] 刘延泽. 植物组织破碎提取法及闪式提取器的创制与实践[J]. 中国天然药物,2007,5(6):401.
- [5] 吴冬梅. 闪式提取器在中药研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(7):34,37.
- [6] 邓引梅,崔永明,李唯,等. 响应面法优化闪式提取甘草叶总黄酮工艺研究[J]. 化学与生物工程,2008,25(9):44.
- [7] 孔祥峰,印遇龙,伍国耀. 猪功能性氨基酸营养研究进展[J]. 动物营养学报,2009,21(1):1.
- [8] 王玘玮,李海波,蒋学云,等. 美洲大蠊药材中总氨基酸提取工艺优化研究[J]. 大理学院学报,2008,7(12):3.

[责任编辑 全燕]